

AipPure TRIzol 总 RNA 提取试剂

AipPure TRIzol Total RNA Extraction Reagent

使用说明书

◆货号及规格:

目录编号	包装规格
RE201-01	50mL
RE201-02	100mL

◆**储存事项:** AipPure TRIzol Reagent 需避光保存, 在室温下能稳定保存 12 个月。尽管如此, 为达到最佳使用效果, 我们建议保存在 2~8°C 的环境中, 保质期可达 24 个月。

◆**重要提示:** 本品中含有苯酚, 具有毒性和腐蚀性。如果吸入体内、接触皮肤、吞食等会导致中毒、灼伤以及其他身体伤害。使用本制品时应穿戴防护用品(如防护服装、手套、眼罩、面罩等)。如果不小心接触, 应立即用大量的清水冲洗, 严重的请立即前往医院治疗。

◆产品介绍:

1. AipPure TRIzol Reagent 是广谱型总 RNA 提取试剂。实验操作快速方便, 颜色鲜明, 便于分层。本试剂适用范围广泛, 可以从动物组织、植物材料、各种微生物及培养细胞等样品中提取总 RNA。该方法对少量的组织(50-100mg)和细胞(5×10^6)以及大量的组织($\geq 1g$)和细胞($> 10^7$)均有较好的分离效果。样品在 AipPure TRIzol Reagent 中被充分裂解的同时能够最大限度地保证 RNA 的完整性。在加入氯仿离心后, 溶液会分成三层: 上层无色水相、中间层和下层红色有机相, RNA 分布在上清层中。收集上清层后, 经异丙醇沉淀便可以回收得到总 RNA。提取的总 RNA 完整性好, 无蛋白和 DNA 污染, 可用于各种分子生物学常规实验, 如 RT-PCR、qRT-PCR、Northern-Blot、Dot-Blot、体外翻译等。
2. AipPure TRIzol Reagent 能促进不同种属不同分子量大小的多种 RNA 的析出。例如, 从大鼠肝脏抽提的 RNA 琼脂糖凝胶电泳并用溴化乙啶染色, 可见许多介于 7kb 和 15kb 之间不连续的高分子量条带(mRNA 和 hnRNA 成分), 两条优势核糖体~5 kb(28S)和~2 kb(18S), 低分子量 RNA 介于 0.1 和 0.3 kb 之间 (tRNA, 5S)。当抽提的 RNA 用 TE 稀释时其 A260/A280 比值 ≥ 1.8 。

注: 如果是普通琼脂糖凝胶电泳, 28S 的位置大约在 2kb, 18S 大约在 1kb 的位置,

不同浓度的凝胶位置变化较大。

◆**注意事项:**

1. 样品用 AipPure TRIzol Reagent 匀浆后, 如果不即刻加入氯仿之前, 置于-70°C 下可放置一个月以上。保存在 75%乙醇中的 RNA 沉淀, 2-8°C 可以保存一周, -20°C 条件下可以保存 1 年。RNA 半衰期比较短, 容易降解, 建议提取后尽快进行后续实验, 如反转录成 cDNA, Northern Blot 等。
2. 若下游实验对 DNA 非常敏感, 建议用 DNase I(RNase-free)(货号: M328)对 RNA 进行处理。
3. 自备试剂: 氯仿、异丙醇(新开封或提取 RNA 专用)、75%乙醇(用 DEPC 处理过的水配制)、RNase-free Water 或者 DEPC 处理过的水。
4. 本公司生产的 AipPure TRIzol Reagent 质量优异, 可以完美替代 Invitrogen 的 TRIzol Reagent。提取质量和下游实验完全一样。已经销售多年, 从无质量问题。客户如果购买本公司 AipPure TRIzol Reagent 证明不能替换 Invitrogen 的 TRIzol, 无条件退货! 并 3 倍销售价格赔偿!

◆**RNA 抽提操作步骤(实验前请先阅读注意事项):**

提示: 用 AipPure TRIzol Reagent 抽提 RNA 时要戴手套和护眼罩。避免接触皮肤和衣服。在化学通风橱完成操作。避免呼吸道吸入。如无特殊说明, 所有的操作应该在在 15~30°C 的室温条件下。

1. 匀浆

- a. **植物组织:** 取新鲜植物组织在液氮中充分研磨或将植物组织剪碎后直接在 AipPure TRIzol Reagent 中迅速研磨, 每 50-100mg 组织加入 1mL AipPure TRIzol Reagent, 混匀。
注意: 样品体积一般不要超过 AipPure TRIzol Reagent 体积的 10%。
- b. **动物组织:** 取新鲜或 -70°C 冻存动物组织尽量剪碎, 每 30-100mg 组织加入 1mL AipPure TRIzol Reagent, 匀浆仪进行匀浆处理。或在液氮中研磨后加入 AipPure TRIzol Reagent 1mL 混匀。
注意: 样品体积一般不要超过 AipPure TRIzol Reagent 体积的 10%。
- c. **单层培养细胞:** 尽量去除干净残留培养液后直接往直径 3.5 cm 的培养板中加入 1mL 的 AipPure TRIzol Reagent 覆盖并反复吹打裂解细胞。依据培养板的面积而不是依据细胞的数量来决定所需的 AipPure TRIzol Reagent 量(每 10cm² 加 1mL)。当 AipPure TRIzol Reagent 量不足时可导致抽提的 RNA 中污染有 DNA。
注意: 贴壁培养细胞往往不能完全从培养瓶(皿)脱落, 这并不意味着裂解不完全, 此时细胞膜实际已经完全破裂开, 并已释放出全部 RNA, 继续做即可。

- d. **细胞悬液:** 离心收集细胞。在AipPure TRIzol Reagent 试剂中用移液管反复吹打来裂解细胞。每5~10×10⁶ 的动物细胞, 植物或酵母菌细胞或每1×10⁷ 细菌加1mL 的AipPure TRIzol Reagent。在加入AipPure TRIzol Reagent 前应避免洗涤细胞, 因为那样会增加mRNA降解的可能性。破裂某些酵母菌和细菌可能需要使用匀浆器。
 - e. **血液:** 推荐使用本公司的AipPure TRIzol LS Reagent(货号: RE202), 这是全血或者液体样品专用的TRIzol试剂, LS就是Liquid Sample 液体样品的首字母简写。相当于Invitrogen公司的 TRIzol LS。
2. 将匀浆样品剧烈震荡后在室温条件下放置 5 分钟以使核蛋白体完全解离。
 3. **可选步骤:** 在 4°C 的条件下以 12,000 rpm 的离心力离心 10 分钟, 取上清。
注 如样品中含有较多蛋白质, 脂肪, 多糖或肌肉, 植物的块茎结节等可离心去除。离心后的沉淀中包含有细胞外膜, 多糖, 以及高分子量 DNA, 上清中含有 RNA。处理脂肪组织的样品时, 上层是大量油脂应除去。取澄清的匀浆液进行下一步。
 4. 每 1mL AipPure TRIzol Reagent 加 0.2mL 氯仿。盖紧管盖, 剧烈震荡 15 秒并将其在室温下放置 2~3 分钟。
 5. 在 4°C 12,000 rpm 的离心力高速冷冻离心 10-15 分钟。离心后混合物分成三层: 下层红色有机苯酚氯仿层, 中间层, 上层无色的水样层。RNA 无一例外地存在于水样层当中。水样层的容量大约为所加 AipPure TRIzol Reagent 容量的 50-60%。(有机层和中间层是蛋白和 DNA, 如果需要提取, 请联系我们索取提取方法)。
 6. 将水样层转移到一干净的离心管中, 加入等体积异丙醇。颠倒混匀后室温放置 10 分钟。
注: RNA 沉淀在离心前通常不可见, 离心后在管侧和管底形成胶状沉淀。
 7. 在室温或者 4°C 12,000 rpm 离心 10 分钟, 弃上清。
 8. 加入 75%乙醇洗涤沉淀。每使用 1mL 的 AipPure TRIzol Reagent 用 1mL 的 75%乙醇对沉淀进行洗涤。
 9. 在室温或者 4°C 用 12,000 rpm 离心 3 分钟, 弃上清, 注意不要丢失 RNA 沉淀。
注: 剩余的少量液体可短暂离心, 然后用枪头吸出, 注意不要吸弃沉淀。
 10. 室温放置 2-3 分钟, 晾干。加入 30-100μL RNase-free Water, 充分溶解 RNA, 得到的 RNA 保存在-70°C, 防止降解。
注: 沉淀不要过分干燥, 以免难于溶解。

=====



扫码关注我们